



PATENT APPLICATION

1632  
#4  
KL  
5-28-02

IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

RECEIVED

APR 19 2002

TECH CENTER 1600/2900

In re application of

Per Sonne HOLM, Hans-Dieter ROYER, Manfred DIETEL,  
Hermann LAGE, Axel LADHOFF, Karsten JUERCHOTT,  
Stephan BERGMANN ad Karsten BRAND

Appln. No.: 10/029,574 Group Art Unit: 1632

Filed: December 20, 2001

For: AGENTS FOR TREATING MALIGNANT DISEASES USING  
PROTEIN YB-1

Attorney Docket No.: 3961.002

SUBMISSION CERTIFIED COPY OF PRIORITY DOCUMENT

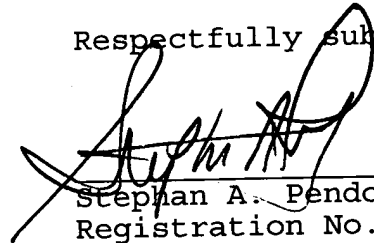
Honorable Commissioner of  
Patents and Trademarks  
Washington, D.C. 20231

Sir:

Attached please find the following:

1. Certified Copy of the Priority Document, German  
Application No. 199 29 569.7 filed June 21, 1999.

Respectfully submitted,

  
Stephan A. Pendorf  
Registration No. 32,665

PENDORF & CUTLIFF  
P. O. Box 20445  
Tampa, FL 33622-0445  
(813) 886-6085

Date: April 8, 2002

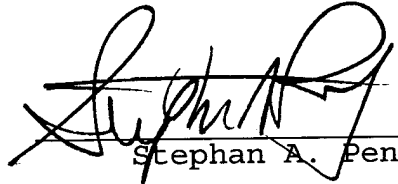
U.S. Patent Application No. 10/029,574  
SUBMISSION OF CERTIFIED COPY  
OF PRIORITY DOCUMENT

Attorney Docket No.: 3961.002

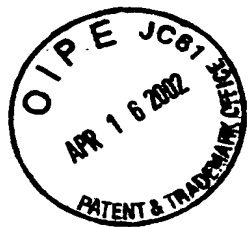
CERTIFICATE OF MAILING AND AUTHORIZATION TO CHARGE

I hereby certify that the foregoing SUBMISSION OF CERTIFIED COPY OF PRIORITY DOCUMENT for U.S. Application No. 10/029,574 filed December 20, 2001, were deposited in first class U.S. mail, postage prepaid, addressed: Attn: Commissioner of Patents and Trademarks, Washington, D.C. 20231, on this 8th day of April, 2002.

The Commissioner is hereby authorized to charge any additional fees, which may be required at any time during the prosecution of this application without specific authorization, or credit any overpayment, to Deposit Account No. 16-0877.

  
Stephan A. Pendorf

# BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND



RECEIVED

APR 19 2002

TECH CENTER 1600/2900

## Prioritätsbescheinigung über die Einreichung einer Patentanmeldung

**Aktenzeichen:** 199 29 569.7

**Anmeldetag:** 21. Juni 1999

**Anmelder/Inhaber:** Dr. Per Sonne H o l m,  
Berlin/DE

**Bezeichnung:** Mittel zur Behandlung maligner Erkrankungen  
unter Verwendung des Proteins YB-1

**IPC:** A 61 K, C 12 N, A 61 P

Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ursprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.

München, den 28. Februar 2002  
Deutsches Patent- und Markenamt  
Der Präsident  
Im Auftrag

Hiebinger



## Mittel zur Behandlung maligner Erkrankungen unter Verwendung des Proteins YB-1

### 5 Beschreibung

Die Erfindung betrifft Mittel zur Behandlung maligner Erkrankungen. Mit Hilfe der erfinderischen Lösung wird es möglich, eine E1A-unabhängige Replikation von Adenoviren in Tumorzellen zu bewirken, um damit diese Tumorzellen zu zerstören. Außerdem wird es  
10 ermöglicht, durch den Einsatz von E1A-defekten Adenoviren Tumorzellen zu zerstören, die das Protein YB-1 im Kern aufweisen. Anwendungsgebiete sind die Medizin und die pharmazeutische Industrie.

Bei dem Protein YB-1 handelt es sich um einen Vertreter der Y-Box-Proteinfamilie, die an  
15 das DNA-Sequenzmotiv Y-Box bindet. Das Y-Box-Motiv stellt ein transkriptionell regulatorisches Element dar, das sich in den Promoter- oder Enhancer-Regionen einer Anzahl unterschiedlicher Gene findet, die eine Rolle bei der Regulation der Zellproliferation spielen (Ladomery, M. et al., 1995, Bioassays 17:9-11; Didier, D. K. et al., 1988, PNAS, 85, 7322-7326).

Über die Rolle des Proteins E1A bei der Adenovirus-Replikation berichten Flint et al. (Flint,  
20 J. and Shenk, T. A., 1989, Rev. Genet., 23, 141-161).

Den Zusammenhang von YB-1 (Faktor YB-1) und MDR-1-Gen-Expression (MDR - multidrug resistance) sowie der Lokalisation von YB-1 im Zellkern und P-Glycoprotein (Pgp oder P-170) haben Bargou et al. untersucht (Bargou, R. C. et al., Nature Med. 3, 1997, 4:447-  
450). Bei der Analyse von Mammakarzinomgewebe wurde eine deutliche Überexpression von YB-1 im Vergleich zum normalen Brustepithel nachgewiesen. Zudem wurde gezeigt, daß es nach der Lokalisation des Faktors YB-1 in den Kern zur Synthese des P-Glycoproteins kommt und damit die Ausbildung des Multidrug-Resistenz Phänotyps bewirkt wird. Von allen untersuchten Tumoren wiesen 30 % YB-1 zusätzlich im Kern auf. Von diesen exprimierten  
30 alle (100 %) das P-Glycoprotein.

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, neue Mittel zur Verfügung zu stellen, die es erlauben, neoplastisches Gewebe zu zerstören. Die Aufgabe wurde erfindungsgemäß dadurch gelöst, daß Adenoviren mit YB-1-abhängiger Replikationskompetenz oder E1A-defiziente  
35 Adenoviren eingesetzt werden.

Die Erfinder konnten zeigen, daß E1A-defiziente (E1A-defekte) Adenoviren überraschenderweise in Zellen zur Replikation fähig sind, die den Faktor YB-1 im Kern enthalten. Die praktische Vorgehensweise besteht darin, YB-1-exprimierende Tumorzellen mit E1A-defizienten Adenoviren zu infizieren. Da das Virus nur in Zellen repliziert, in denen sich YB-1 im Kern befindet, werden auch nur diese Zellen durch die Virusvermehrung zerstört.

Mit dieser Erfindung werden Mittel zur E1A-unabhängigen Replikation von rekombinanten, die YB-1 kodierende DNA-Sequenz tragende Adenoviren beansprucht, die Zellen zur Synthese des rekombinanten, adenoviralen YB-1 veranlassen. Damit betrifft die Erfindung die Verwendung von YB-1 zur E1A-unabhängigen Replikation von Adenoviren. Das Wesen der Erfindung besteht darin, daß ein replikativ defektes E1A-Adenovirus durch die Synthese von YB-1 wieder in Zellen replizierbar wird und dadurch die Tumorzelle zerstört.

Beansprucht werden Mittel zur Behandlung maligner Erkrankungen, basierend auf dem Einsatz von E1A-defizienten Adenoviren mit YB-1 abhängiger Replikation sowie des weiteren Mittel zur E1A-unabhängigen Replikation von Adenoviren, gekennzeichnet dadurch, daß sie YB-1-vermittelt sind. Diese Mittel können weitere tumorzellschädigende Substanzen enthalten.

Ein weiteres Merkmal der Erfindung besteht in der Verwendung des Proteins YB-1 zur E1A-unabhängigen Replikation von Adenoviren. Es gehören ferner zu den Merkmalen der Erfindung: Die Verwendung von E1A-defekten Adenoviren zur Zerstörung von Tumorzellen, die im Kern das Protein YB-1 enthalten sowie die Verwendung von rekombinanten, die YB-1 kodierende DNA-Sequenz tragenden E1A-defekten Adenoviren in der Therapie und in der biomedizinischen Forschung.

Die Merkmale der Erfindung gehen außer aus den Ansprüchen auch aus der Beschreibung hervor, wobei die einzelnen Merkmale jeweils für sich allein oder zu mehreren in Form von Kombinationen vorteilhafte schutzfähige Ausführungen darstellen, für die mit dieser Schrift Schutz beantragt wird. Die Kombination besteht aus bekannten (Protein YB-1, E1A-defizienten Adenoviren) und neuen Elementen (Infizieren von Zellen mit E1A-defizienten Adenoviren), die sich gegenseitig beeinflussen und in ihrer neuen Gesamtwirkung einen Vorteil (synergistischen Effekt) und den erstrebten Erfolg ergeben, der darin liegt, daß nunmehr Tumorzellen zerstört und gesunde Zellen nicht beeinträchtigt werden.

Ein weiteres Kombinationsmerkmal besteht darin, daß die erfindungsgemäßen Mittel gemeinsam mit anderen tumorzellschädigenden Substanzen - z.B. Zytostatika oder Ribozymen - oder anderen therapeutischen Ansätzen - wie chirurgische Tumorexzision,

5

Strahlentherapie, Chemotherapie, Hyperthermie oder Gentherapie - Verwendung finden.

Die Erfindung soll anhand von Ausführungsbeispielen näher erläutert werden, ohne auf diese  
5 Beispiele beschränkt zu sein.

### Ausführungsbeispiele

10

#### Beispiel 1

Klinischer Einsatz von E1A-defekten Adenoviren gegen neoplastische Erkrankungen, auch in  
Kombination mit anderen therapeutischen Ansätzen, wie z.B. chirurgische Tumorexzision,  
15 Strahlentherapie, Chemotherapie, Einsatz von Hyperthermie, Gentherapie.

#### Beispiel 2

Einsatz in der biomedizinischen Forschung zur Entwicklung von verbesserten  
20 gentherapeutischen Verfahren.

1. Mittel zur Behandlung maligner Erkrankungen, basierend auf dem Einsatz von E1A-defizienten Adenoviren mit YB-1 abhängiger Replikation.

5

2. Mittel nach Anspruch 1 zur E1A-unabhängigen Replikation von Adenoviren, dadurch gekennzeichnet, daß sie YB-1 vermittelt ist.

10

3. Mittel nach den Ansprüchen 1 und 2, dadurch gekennzeichnet, daß sie weitere tumorzellschädigende Substanzen enthalten.

4. Verwendung des Proteins YB-1 nach Anspruch 1 und 2 zur E1A-unabhängigen Replikation von Adenoviren.

15

5. Verwendung von E1A-defekten Adenoviren nach Anspruch 1 zur Zerstörung von Tumorzellen, die im Kern das Protein YB-1 enthalten.

6. Verwendung von rekombinanten, die YB-1 kodierende DNA-Sequenz tragenden E1A-defekten Adenoviren nach Anspruch 1 in Therapie und biomedizinischer Forschung.

20

## **Zusammenfassung**

Die Erfindung betrifft Mittel zur Behandlung maligner Erkrankungen unter Verwendung des Proteins YB-1. Sie ermöglicht es, eine E1A-unabhängige Replikation von Adenoviren in Tumorzellen zu bewirken, um damit diese Tumorzellen zu zerstören und durch den Einsatz von E1A-defekten Adenoviren Tumorzellen zu zerstören, die das Protein YB-1 im Kern aufweisen.